FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966

# THÈSE n° 300

POUR LE

# DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Nicole SCHLEGEL, née JACQUES

le 5 septembre 1939 à Charenton-Le-Pont (Seine)

---

Présentée et soutenue publiquement le :

---

## LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DANS LA LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE

---

Président : Mr. Jean BERNARD, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1966

# THÈSE

n°

POUR LE

# DOCTORAT EN MÉDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Nicole SCHLEGEL, née JACQUES

le 5 septembre 1939 à Charenton-Le-Pont (Seine)

—

Présentée et soutenue publiquement le :

—

## LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DANS LA LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE

—

Président : Mr. Jean BERNARD, Professeur.

EDITIONS A.G.E.M.P. — 8, RUE DANTE - PARIS-Ve

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK LEIDEN

1/1/1966

## PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

**DOYEN** . . . . . Georges BROUET.

**1er ASSESSEUR** . . . . . Daniel BARGETON

**2e ASSESSEUR** . . . . . Jean GOSSET

## I. — PROFESSEURS

### 1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

| | MM. |
|---|---|
| Anatomie | DELMAS (A.) |
| Anatomie et cytologie pathologiques | DELARUE (J.) |
| Anesthésiologie | BAUMANN (J.) |
| Bactériologie et virologie | TOURNIER (P.) |
| Biochimie médicale | JAYLE (M.-F.) |
| — | POLONOVSKI (J.) |
| Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports | MALMEJAC (J.) |
| Biologie médicale | FAUVERT (R.) |
| Biophysique médicale | BUGNARD (L.) |
| — | DOGNON (A.) |
| — | DJOURNO (A.) |
| Cancérologie médicale et sociale | DENOIX (P.) |
| Chimie pathologique | SCHAPIRA (G.) |
| Embryologie | TUCHMANN (H.) |
| Génétique fondamentale | LEJEUNE (J.) |
| Histoire de la médecine et de la chirurgie | COURY (Ch.) |
| Histologie | GIROUD (A.) |
| Hygiène et médecine préventive | BOYER (J.) |
| Médecine du Travail | DESOILLE (H.) |
| Médecine légale | DEROBERT (L.) |
| Microbiologie (Bactériologie et virologie) | FASQUELLE (R.) |
| Parasitologie | BRUMPT (L.-C.) |
| Pathologie chirurgicale | LAURENCE (G.) |
| — | KUSS (R.) |
| — | VERNE (J.-M.) |
| Pathologie exotique | N... |
| Pathologie expérimentale et comparée | MERKLEN (F.-P.) |
| Pathologie médicale | LAROCHE (Cl.) |
| — | BRICAIRE (H.) |
| — | PÉQUIGNOT (H.) |
| Pathologie respiratoire | TURIAF (J.) |
| Pathologie et thérapeutique générales | N... |
| Pharmacologie | CHEYMOL (J.) |
| — | LEVY (Mlle J.) |
| Physiologie | BARGETON (D.) |
| — | PARROT (J.) |
| Physiologie et pathologie obstétricales | LEPAGE (F.) |
| Radiologie médicale | DESGREZ (H.) |

| | MM. |
|---|---|
| Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale | CAUCHOIX (J.) |
| Thérapeutique | CONTE (M.) |
| Thérapeutique appliquée | LAMOTTE (M.) |

### b) Professeurs à titre personnel :

| | |
|---|---|
| Anatomie anthropologique | OLIVIER (G.) |
| Anatomie pathologique | NEZELOF (Ch.) |
| Bactériologie | BARBIER (P.) |
| Biochimie médicale | DESGREZ (P.) |
| | DREYFUS (J.-Cl.) |
| Biologie médicale | BOURLIÈRE (F.) |
| Histologie | COUJARD (R.) |
| Parasitologie | LARIVIÈRE (M.) |
| Pathologie expérimentale | LOEPER (M.) |
| | RICHET (G.) |
| Physiologie | DENOURS (P.) |
| | ROUCAYROL (J.-Cl.) |
| | SCHERRER (J.) |
| Physique médicale | KELLERSHOHN (L.) |
| | GOUGEROT (L.) |
| | TUBIANA (M.) |
| Radiologie médicale | FISCHGOLD (H.) |

## 2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

### a) Professeurs titulaires :

| | | MM. |
|---|---|---|
| Clinique carcinologique chirurgicale (Necker) | | REDON (H.) |
| Clinique cardiologique (Broussais) | | SOULIÉ (P.) |
| — — (Boucicaut) | | LENÈGRE (J.) |
| Cliniques chirurgicales | Beaujon | LORTAT-JACOB (J.-L.) |
| | — | N... |
| | Cochin | LEGER (L.) |
| | Hôtel-Dieu | PATEL (J.) |
| | Saint-Antoine | GOSSET (J.) |
| | Salpêtrière | SICARD (A.) |
| | Tenon | OLIVIER (Cl.) |
| Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin) | | MERLE d'AUBIGNÉ (R.) |
| — — — (Foch) | | PADOVANI (P.) |
| Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades) | | FÈVRE (M.) |
| Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais) | | DUBOST (Ch.) |
| Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec) | | MATHEY (J.) |
| Clinique dermatologique (Saint-Louis) | | DUPERRAT (F.) |
| Clinique endocrinologique (Pitié) | | DECOURT (J.) |
| Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades) | | LAMY (M.) |
| Clinique gynécologique (Broca) | | HUGUIER (J.) |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis) | | DEGOS (R.) |
| Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades) | | TURPIN (R.) |
| Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard) | | MOLLARET (P.) |
| Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne) | | DELAY (J.) |
| Clinique des maladies métaboliques (Necker) | | HAMBURGER (J.) |
| Clinique des maladies du sang (Broussais) | | BERNARD (J.) |
| Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière) | | CASTAIGNE (P.) |
| Cliniques médicales | Bicêtre | DEPARIS (M.) |
| | Broussais | MILLIEZ (P.) |
| | Cochin | BROUET (G.) |
| | Hôtel-Dieu | BARIÉTY (M.) |
| | Laribolsière | SÈZE (S. de) |
| | Pitié | DREYFUS (G.) |
| | Saint-Antoine | KOURILSKY (R.) |
| | Saint-Antoine | BOUDIN (G.) |

| | MM. |
|---|---|
| Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat) | DEBRAY (Ch.) |
| Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades) | MARIE (J.) |
| Clinique médicale propédeutique (Broussais) | JUSTIN-BESANÇON (L.) |
| Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu) | DEROT (M.) |
| Clinique de neuro-chirurgie (Pitié) | DAVID (M.) |
| Clinique neurologique (Salpêtrière) | GARCIN (R.) |
| Cliniques obstétricales — Baudelocque | LACOMME (M.) |
| Cliniques obstétricales — Saint-Antoine | MERGER (R.) |
| Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal) | VARANGOT (J.) |
| Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu) | OFFRET (G.) |
| — — (Cochin) | BREGEAT (P.) |
| Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) | AUBRY (M.) |
| Clinique de pédiatrie | MOZZICONACCI (P.) |
| Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul) | THIEFFRY (S.) |
| Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec) | BERNARD (E.) |
| Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière) | MICHAUX (L.) |
| Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin) | COSTE (F.) |
| Clinique stomatologique (Salpêtrière) | DECHAUME (M.) |
| Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard) | ROUX (M.) |
| Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine) | LEMAIRE (A.) |
| Clinique toxicologique | GAULTIER (M.) |
| Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré) | JUDET (R.) |
| Clinique urologique (Cochin) | ABOULKER (P.) |
| — — (Necker) | COUVELAIRE (R.) |
| Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau) | LAPLANE (R.) |
| Séméiologie médicale (A. Chantin) | DOMART (A.) |
| — — (Lariboisière) | BOUVRAIN (Y.) |
| — — (Pitié) | RAMBERT (P.) |
| — — (Rothschild) | WOLFROMM (R.) |
| Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais) | POILLEUX (F.) |

b) Professeurs à titre personnel :

| | |
|---|---|
| Hématologie | ANDRÉ (R.) |
| | BOUSSER (J.) |
| Hydrologie et climatologie | GIBERTON (A.) |
| Maladies infectieuses | BASTIN (R.) |
| Médecine | AZERAD (E.) |
| | BOUR (H.) |
| | CABROL (Ch.) |
| | GROSSIORD (A.) |
| | LAMBLING (A.) |
| | LAUNAY (Cl.) |
| | PAYET (M.) |
| | PERRAULT (M.) |
| | SIGUIER (F |
| | WORMS (R.) |
| Neuro-chirurgie | LE BEAU (J.) |
| Neurologie | LHERMITTE F. |
| Neuro-psychiatrie | PICHOT (P.) |
| Oto-Rhino-Laryngologie | MADURO (R.) |
| Pédiatrie | POLONOVSKI (Cl.) |
| | ROYER (P.) |
| Pneumo-Phtisiologie | KREIS (B.) |
| | MEYER (A.) |
| Rhumatologie | DELBARRE (F.) |

## II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

| | MM. |
|---|---|
| Anatomie pathologique | GOUYGOU (Ch.) |
| Anesthésiologie | VOURC'H (G.) |
| Bactériologie | CHRISTOL (D.) |
| Biochimie médicale | CARTIER (P.)<br>GONNARD (P.) |
| Biologie médicale | HARTMANN (L.) |
| Hématologie | BILSKI-PASQUIER (G.) |
| Maladies infectieuses | DUPONT (V.) |
| Physique médicale | COURSAGET (J.)<br>GREMY (F.) |
| Physiologie | GIRARD (Fr.) |
| Stomatologie | CHAPUT (Mme A.) |
| Thérapeutique | CHASSAGNE (P.) |

## III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

| | |
|---|---|
| Bactériologie | HAUDUROY (P.) Pr. s. ch |
| Pathologie chirurgicale | RUDLER (J.) Pr. s. ch. |

## IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

| | |
|---|---|
| Statistique médicale et épidémiologique | SCHWARTZ (D.) |

---

| | |
|---|---|
| Secrétaire général de la Faculté | M. LENA (J.) |
| Conseillers administratifs | Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.) |
| Conservateur en Chef de la Bibliothèque<br>Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine | M. le Docteur HAHN (A.) |
| Conservateurs | Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.),<br>LE NOIR (G.), |
| Bibliothécaires | Mmes CONTET (J.), FORGET (F.),<br>Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.) |

*Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.*

A mon Mari.

A ma Fille.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545816_0054

A ma Belle-Mère

et

A mes Parents.

Qu'ils trouvent ici l'expression de
ma très vive reconnaissance, et de toute
mon affection.

A toute ma famille

A mes Amis.

A mon Maître, Monsieur le Professeur Jean BERNARD.

Professeur de Cancérologie Médicale et Sociale.

Médecin de l'Hôpital Saint-Louis.

Commandeur de la Légion d'Honneur.

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de mon profond respect.

A Monsieur le Docteur TANZER.

Que je tiens à remercier particulièrement
pour son aide dans ce travail.

A mes Maîtres d'Externat :

Monsieur le Professeur de GAUDART D'ALLAINES

Monsieur le Docteur LANVIN

Monsieur le Professeur MOZZICONACCI

Monsieur le Docteur BACH

Monsieur le Professeur TURPIN

Monsieur le Professeur BOIRON

Monsieur le Docteur SELIGMANER.

# LA PHOSPHATASE ALCALINE LEUCOCYTAIRE DANS LA LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE

## - INTRODUCTION ET HISTORIQUE

La présence de phosphatase alcaline, phosphomonoestérase non spécifique (57), dans les leucocytes, est connue depuis longtemps. Elle est soupçonnée en 1929 par KAY (33) puis démontrée biochimiquement en 1931 par ROCHE (53) dans des suspensions de granulocytes et de lymphocytes.

GOMORI (21) et TAKAMATSU (62) décrivent en 1939 (in 26) une méthode cytochimique d'évaluation du taux de l'enzyme.

Avec cette méthode, FELL (in 21) et WACHSTEIN (71), en 1946, étudient les globules blancs humains. WACHSTEIN (71) observe pour la première fois que le taux de la phosphatase alcaline leucocytaire est abaissé dans la leucémie myéloïde chronique.

De nombreuses observations, faites notamment par les biochimistes, ⊕ confirment la découverte de WACHSTEIN (71). Puis des méthodes cytochimiques plus précises, utilisant des principes quelque peu différents de ceux de GOMORI, sont décrites.

---

⊕ - FIESSINGER (18) avait étudié biochimiquement les globules blancs de la leucémie myéloïde chronique et y avait trouvé un taux faible de phosphatase, mais il pensait que le taux de l'enzyme était toujours bas dans les cellules du sang circulant.

Depuis 1955, tout le monde s'accorde pour recourir à la technique de KAPLOW (31), avec des modifications de détail. Avec cette technique, on établit définitivement que dans les cellules du sang circulant, l'enzyme est localisée uniquement aux polynucléaires neutrophiles et ne se trouve que dans le cytoplasme de ceux-ci. C'est surtout grâce à cette méthode facile à mettre en oeuvre et relativement précise, bien que semi-quantitative, qu'il est devenu possible d'étudier valablement et simplement un grand nombre de malades.

L'évaluation de la phosphatase alcaline leucocytaire s'est révélée d'un grand intérêt essentiellement dans les syndrômes myéloprolifératifs et il est devenu classique d'opposer la diminution de la phosphatase dans les leucémies myéloïdes chroniques à l'augmentation observée le plus souvent dans les "réactions myéloïdes", la splénomégalie myéloïde et la polyglobulie. Mais certaines observations de la littérature (43, 44, 27, 50) ont laissé à penser que des nuances devaient être apportées à ce schéma, un taux de phosphatase élevé ayant été noté dans un certain nombre d'observations aux différents stades de la maladie.

Pour tenter de préciser ces nuances, nous avons étudié une série de 155 cas de leucémie myéloïde chronique.

-=-=-=-=-

## MATERIEL, METHODES

- TECHNIQUES

Peu de modifications ont été apportées à la technique décrite en 1963 (64).

Principe : Les frottis sont recouverts d'une solution tamponnée contenant de l'$\alpha$-naphtyl-phosphate de Na et un sel de diazonium. L'enzyme intra-cellulaire libère "in situ" de l'acide phosphorique et du naphtol. Celui-ci se combine avec le colorant diazoïque et donne un précipité coloré dont l'intensité est évaluée à l'examen microscopique.

Matériel :

A - Fixateur :

Formol (Solution de formaldéhyde à 35-39 %) ... 10 ml
Alcool méthylique absolu ..... 90 ml
Conserver à -20°.

Au moment de l'utilisation, ramener la température du fixateur à 0° $\pm$ 4°.

B - Solution stock de propanediol (0,2 M) :

2 amino - 2 méthyl - 1,3 propanediol ..... 10,5 g
Eastman Kodak Co, Rochester (NY) USA
Eau distillée ..... 500 ml
Conserver à + 4°.

C - Solution tampon de Propanediol (pH 9,75)

| | | |
|---|---|---|
| Solution stock précédente (B) ..... | 25 | ml |
| HCl 0,1 N ..... | 5 | ml |
| Eau distillée q.s.p. ..... | 100 | ml |

Conserver à + 4°.

D - Alpha naphtyl phosphate acide de Na (Dajac Laboratories, Leominster, Mass., USA).

Répartir en paquets de 10, 20, 30 mg, etc ... Suivant le nombre de lames à traiter.

Conserver à + 4° dans un récipient fermant hermétiquement.

E - Sel de diazonium de 4-Benzoyl - 2,5 Methoxyaniline Fast Blue R.R. (General Dyestuff Corp. 255, Atlantic Ave. Boston, Mass. ⊕ USA).

Répartir en paquets et conserver comme pour D.

F - Mélange contenant le substrat (pH 0,5-9,6). Le préparer juste au moment de l'utilisation en ayant laissé les divers constituants revenir à la température du laboratoire.

Pour recouvrir six ou sept lames :

| | | |
|---|---|---|
| α naphtyl phosphate de Na (D) ..... | 10 | mg |
| Fast Blue R.R. (E) ..... | 10 | mg |
| Solution tampon (C) ..... | 10 | ml |

G - Vert de méthyle :

Faire une solution à 7 % dans l'eau distillée. Dans une ampoule à décantation, laisser en contact cette solution avec la moitié de son volume de chloroforme pendant vingt-quatre à quarante-huit heures. Agiter à plusieurs reprises au cours de cette décantation. Recueillir la solution purifiée qui se conserve de nombreux mois à la température du laboratoire en flacon hermétique opaque.

---

⊕ Il est très important d'utiliser le Fast Blue R.R. et non le Fast Blue B.B., ou le Fost Blue B (12, chapître III) dont la formule chimique est différente.

H - Lames de verre standard.

- Préparation des lames :

1 - Les frottis, aussitôt étalés et séchés à l'air, sont immergés pendant trente secondes dans le fixateur A (à 0° ± 4°), puis rincés à l'eau courante (dix secondes).

2 - Le plus tôt possible après le prélèvement (il paraît préférable de ne pas attendre le lendemain), le mélange contenant le substrat (F) est filtré directement sur les lames, ou bien les lames sont immergées dans le mélange (F). On laisse dix minutes à la température du laboratoire, puis les lames sont rincées dix secondes à l'eau courante.

3 - Les lames sont ensuite colorées au vert de méthyle pendant quinze minutes puis rincées et séchées à l'air.

- Lecture des lames : L'indice phosphatasique ("score" de KAPLOW) : (- 31).

A l'immersion, le cytoplasme des cellules renfermant de la phosphatase alcaline apparaît suivant le taux de celles-ci, teinté de brun clair ou ponctué d'un nombre plus ou moins grand de granulations brun-noir.

KAPLOW (31) après BRODELL et SWISHER (9 in 31), a proposé d'examiner cent neutrophiles et d'exprimer l'activité phosphatasique de chacun d'eux par un chiffre de 0 à 4, d'après les critères suivants :

0 : cytoplasme incolore,
1 : cytoplasme à peine teinté,
2 : cytoplasme nettement brun, très peu ou pas de granulations brun-noir,
3 - nombreuses granulations brun-noir,
4 - précipité très foncé par coalescence des grains.

Le score pour cent cellules peut donc varier de 0 à 400.

- Résultats normaux :

Comme les autres auteurs, nous avons observé qu'à l'état normal aucun polynucléaire ne dépasse la cote 2, mais que la dispersion des scores est assez grande.

Chez cinquante sujets normaux, nous avons trouvé un taux moyen de 40 : tous les résultats se sont situés entre 20 et 80, sauf chez deux individus (une fois 10 ; une fois 110).

Tous nos prélèvements ont été effectués le matin à jeun.

Nous n'avons pas étudié de sujets normaux dans les conditions où l'on sait que la phosphatase alcaline leucocytaire peut varier (administration d'A C T H , de cortisone, antifoliques, de progesterone ; grossesse (15, 70).

-=-=-=-=-=-

## DESCRIPTION DES MALADES

Nous avons étudié 155 malades atteints de leucémie myéloïde chronique aux différents phases de l'affection. Les observations peuvent au départ être divisées en sept catégories, les trois premières concernant toutes des malades au stade myélocytaire.

1 - La plupart des cas répondent aux critères classiques de la maladie : dès le premier examen, il a été trouvé plus de 100.000 globules blancs et une formule typique, sans plus de 5 % de myéloblastes, un chiffre de globules rouges presque normal, ou modérément diminué, des plaquettes en nombre normal ou un peu augmenté.

Une légère érythroblastose sanguine n'est pas rare, mais on ne note pas d'érythrodystrophies importantes.

Le myélogramme a été fait dans tous les cas et a toujours montré un rapport de la série granuleuse sur la série erythrocytaire supérieur (et le plus souvent très supérieur) à 4, le pourcentage des myéloblastes restant inférieur à 10 % et en règle , même à 5 %.

La biopsie de moelle iliaque faite au trocart révèle une charpente osseuse d'aspect normal, une absence de fibrose, une densité cellulaire considérablement augmentée, constituée à peu près exclusivement d'éléments granuleux, dont une forte proportion est immature. Il persiste de rares éléments de la série rouge et des mégacaryocytes dont le nombre est plutôt augmenté en valeur absolue.

La splénomégalie est présente le plus souvent et, lorsqu'un splénogramme a été fait, il ne montre que des éléments de la série granulocytaire. Cependant, il n'est pas rare d'avoir un très faible pourcentage d'erythroblastes.

2 - A côté de ce groupe de malades absolument typiques, il existe des cas présentant de très légères modifications par rapport à ce qui a été décrit ci-dessus.

Ces modifications peuvent d'ailleurs coexister et sont les suivantes :

- hyperleucocytose moins forte, mais encore très importante,
- thrombogénie modérée,
- erythroblastose sanguine relativement élevée,
- fibrose modérée à la biopsie médullaire,
- présence de plus de 15 % d'erythroblastes à la ponction splénique.

Malgré ces atypies, la clinique oriente avant tout vers la leucémie myéloïde chronique et la présence d'un chromosome Philadelphie oblige à considérer ces observations comme des leucémies myéloïdes chroniques vraies.

3 - Dans un certain nombre de cas, le diagnostic est beaucoup plus hésitant, mais la présence du Ph1 fournit la preuve de la leucémie myéloïde chronique. Il s'agit ici :

- de cas avec très faible hyperleucocytose, aux environs de 15.000 globules blancs par mm3,
- de cas où un autre diagnostic est d'abord évoqué : splénomégalie myéloïde essentiellement.

En fait, on le verra, ces trois premières catégories de malades ne méritent pas d'être séparées pour ce qui est de la phosphatase alcaline.

4 - Chez les malades vus pour la première fois au moment de la rémission, les examens faits antérieurement en dehors du service ne laissaient aucun doute sur le diagnostic, ou bien un Ph 1 a été retrouvé lors de la rémission.

La rémission est définie par les caractères suivants :
- un bon état clinique et une absence de splénomégalie,
- un chiffre de globules blans inférieur à 12.000 par mm3 et une absence de myélémie,
- un chiffre de plaquettes normal.

On peut noter qu'en dépit des caractères normaux du sang et même parfois de la moëlle, le chromosone Ph 1 persiste.

5 - Quelques malades nous ont été adressés pour une aplasie thérapeutique, avec un chiffre de globules blancs inférieur à 2.500 par mm3 et une moëlle désertique.

Là encore, ou bien les données hématologiques antérieures ne permettaient pas de douter du diagnostic, ou bien un chronosome Ph 1 a pu être mis en évidence, soit à ce moment, soit lors d'un repeuplement ultérieur.

6 - Un certain nombre de malades ont été examinés au moment de la transformation aigue. Celle-ci a été considérée comme acquise lorsque le sang périphérique ou la moëlle montrait une blastose supérieure à 30 %. Dans tous ces cas aussi, un Ph 1 a pu être trouvé.

7 - Enfin, quelques malades, chez qui on a pu avoir l'impression clinique que la transformation aigue était imminente, sans que les critères cytologiques précédents aient été réunis, méritent d'être considérés à part.

-=-=-=-=-=-

## DESCRITION DES RESULTATS

Le tableau I résume les observations faites chez nos 155 malades, mais, insistons-y, lorsque plusieurs dosages ont été effectués chez un même malade au cours d'une même phase évolutive de l'affection, c'est le taux le plus élevé qui y figure.

I - Au cours des phases myélocytaires :

La phosphatase alcaline leucocytaire s'est révélée à chaque fois inférieure à 15 dans 103 cas sur les 116 appartenant aux trois premières catégories définies précédemment , autrement dit, quelles qu'aient pu être les atypies (hyperleucocytose moins forte, thrombopénie, erythroblastose sanguine, fibrose médullaire modérée, erythroblastose supérieure à 15 % à la ponction splénique).

Les 13 autres cas se répartissent ainsi (tableau II) :

- dans 6 cas, le taux a été trouvé entre 16 et 39. Dans cinq d'entre eux, aucune particularité n'a été notée, mais l'indice n'a été déterminé qu'une fois dans quatre de ces cas. Dans le cinquième, l'indice a été évalué à deux reprises, et se situe aux environs de 30.

  Dans le sixième cas existait une grossesse de quatre mois, et, d'ailleurs, une nouvelle évaluation faite après l'accouchement a révélé un taux nul.

- Dans cinq des sept cas restants, il existait au moment où l'indice a été trouvé fort, des circonstances particulières

(infection pulomnaire grave, arthropathie goutteuse, infarctus splénique, grossesse de 5 mois et demi) et chez quatre de ces malades, la détermination de la phosphatase alcaline leucocytaire,en dehors de ces circonstances particulières,a toujours montré un taux nul.

En ce qui concerne les deux derniers cas :

- Pour l'un d'entre eux, une seule détermination de l'indice a été faite et il n'y a pas d'étude chromosomique ;

- Pour l'autre, si tout était caractéristique d'une leucémie myéloïde chronique, l'examen chromosomique n'a pas décelé de Ph 1, mais des cellules à cinquante chromosomes.

Le diagnostic exact pour ces deux malades reste donc quelque peu incertain.

II - Lors des rémissions, le taux de la phosphatase reste très bas, dans 15 cas sur 32 où il est inférieur à 15. Il faut noter que chez les autres, on a pu assister dans certains cas :

- soit à une élévation progressive de l'indice enzymatique au long de la rémission : 2 cas,
- soit, au contraire, à une diminution progressive : 4 cas, le chiffre le plus bas précédant immédiatement la rechute.

III - Au cours des aplasies, l'indice devient très élevé, puisqu'il est supérieur à 100 dans les six cas examinés.

IV - Quant à la transformation aigue (38 malades ont été étudiés à ce stade), elle s'accompagne généralement d'une élévation de la phosphatase alcaline leucocytaire, mais quelques précisions sont nécessaires :

- chez 22 malades, la phosphatase alcaline leucocytaire était élevée d'emblée quand la transformation aigue a été affirmée cytologiquement ;

- chez 5 malades, la phosphatase alcaline leucocytaire est restée basse, même à un stade tardif de la transformation aigue ;
- dans quatre cas, le taux de l'enzyme, bas lors du début de la transformation aigue, s'est élevé ensuite;
- parmi six malades enfin, chez qui on pouvait cliniquement soupçonner le début d'une transformation aigue, confirmée d'ailleurs par l'évolution ultérieure rapide, quatre présentaient un taux élevé, et deux un taux faible.

-=-=-=-=-=-

# D I S C U S S I O N

## I - LA TECHNIQUE.

La méthode de KAPLOW (31) apparaît très supérieure à celle de GOMORI (21) et TAKAMATSU (62) primitivement utilisée et où des phénomènes de diffusion faisaient apparaître des grains intranucléaires : ici les grains sont uniquement cytoplasmiques.

L'appréciation de l'importance de la coloration suivant les critères de KAPLOW (31) est très facile et plusieurs observateurs, même peu entraînés, donnent un score très identique pour une même lame.

La comparaison des résultats de dosages biochimiques effectués sur des suspensions leucocytaires et de dosages cytochimiques sur des frottis des mêmes sangs a montré la validité de la technique cytologique (70).

Des techniques légèrement modifiées ont été proposées :

- nous avons essayé la technique de HAYHOE et QUAGLIMO (26) qui remplacent le Fast Blue R.R. par la Brentamine Fast Garnet. Ces auteurs obtiendraient ainsi un contraste nucléo-cytoplasmique meilleur et la combinaison avec le naphtol serait plus rapide.

Mais la solution contenant substrat et colorant doit être utilisée dans les trois minutes après sa préparation, car son activité diminue de moitié en six minutes et nous n'estimons pas que cette technique soit supérieure à celle utilisant le Fast Blue R.R.

- Pour colorer les noyaux, il nous semble préférable d'utiliser le vert de méthyle, plutôt que l'hématoxyline de MAYER.

Si les polynucléaires sont rares, la lecture peut être plus facile, sur des frottis après leucoconcentration, à condition de se défier alors d'une possible augmentation de l'indice phosphatasique du fait du retard à la fixation.

La méthode semble fidèle si la technique est suivie rigureusement et si on vérifie le pH de la solution de propanediol 0,05 M et de la solution contenant le substrat.

La difficulté réside essentiellement dans la lecture des scores faibles ; il est parfois peu aisé de différencier un cytoplasme incolore (0) d'un cytoplasme peu teinté (1). Les autres degrés de coloration ne font pas hésiter, en règle générale. Nous avons essayé certaines des techniques qui ont été proposées pour permettre une lecture plus facile des scores faibles (1, 32). Elles ne nous ont pas paru avoir beaucoup d'avantages.

II - LES RESULTATS.

1 - En période myélocytaire, les résultats observés chez nos malades coïncident dans l'ensemble avec ceux notés par les auteurs et la détermination de l'indice phosphatasique a une grande valeur diagnostique au cours des syndrômes "myéloïdes".

En effet, l'indice a été trouvé presque constamment diminué à ce stade de la maladie, et une valeur non basse oblige à critiquer de près toutes les données dont on dispose avant d'accepter le diagnostic de leucémie myéloïde chronique.

Il semble cependant que, même au cours des phases myélocytaires, la phosphatase ne soit pas immuable : si l'administration de corticoïdes ne l'élève pas (38), l'incubation in vitro (34), l'injection de pyrogènes (43), l'infection (28, 34, 36, 69, 70) et, d'après nos données, peut-être aussi la grossesse, une arthropathie goutteuse, un infarctus splénique paraissent susceptibles d'augmenter son taux.

Hors ces circonstances, un indice élevé doit aussi faire penser à la proximité d'une transformation aigue.

On sait par ailleurs que dans la splénomégalie myéloïde, la malagie de Vaquez, et les réactions myéloïdes à un épithélioma, à une hémolyse, à une infection, la phosphatase alcaline leucocytaire est le plus souvent élevée (26, 37).

- Nous avons noté (tableau III) :

- Sur 26 cas de splénomégalie myéloïde, un indice élevé chez 24 d'entre eux, et chez deux malades seulement un indice inférieur à 15 ;

- Sur 15 cas de polyglobulie de Vaquez jamais l'indice n'a été inférieur à 15.

Donc, s'il existe quelques cas de splénomégalie myéloïde à phosphatase basse (38, 44), les maladies de Vaquez à taux faible sont rares (38, 44, 4).

Aussi,rares sont les réactions myéloïdes à phosphatase basse.

Nous disposons donc d'un test précieux (45) et, bien qu'un indice phosphatasique bas puisse se voir à l'état normal et dans des affections variées, un syndrome myéloïde avec phosphatase inférieure à la normale est très suspect de leucémie myéloïde chronique. ⊕

C'est ainsi qu'orientés par une valeur enzymatique basse, nous avons décidé d'examiner les chromosomes des cellules médullaires chez trois malades ne présentant qu'une polynucléose

---

⊕ - Chez une enfant, dont la mère est morte de transformation aigue de leucémie myéloïde chronique peu après la naissance, nous avons trouvé une phosphatase basse, comme cela a été signalé par MDZWESKI (42), fait dont la signification est tout à fait mystérieuse.
Nous devons préciser ici que le taux de phosphatase alcaline leucocytaire est, dans les conditions physiologiques, normal ou fort chez le tout jeune enfant (11, 48).

modérée (l'une avec 12.000, l'autre avec 17.000, la troisième avec 19.000 globules blancs par mm3). Nous avons trouvé un chromosome Ph 1 dans les trois cas, et, chez deux d'entre eux, vus avec un recul suffisant, le diagnostic a été encore confirmé par l'augmentation des globules blancs jusqu'à 30.000 par mm3.

Mais, soulignons-le, la détermination de la phosphatase alcaline leucocytaire ne permet pas de distinguer les leucémies myéloïdes chroniques banales de l'enfance et ces cas que les Anglo-Saxons appellent leucémie myéloïde chronique juvénile et qui se signalent en particulier par la présence d'une forte quantité d'hémoblogine F et par l'absence de chromosome Ph 1 (23, 51).

Dans trois cas (non compris dans les malades du tableau I), nous avons trouvé un taux bas.

D'autre part, la phosphatase alcaline leucocytaire n'autorise certes pas à rattacher aux leucémies myéloïdes chroniques les cas de leucémies à polynucléaires. Dans une observation pour laquelle le diagnostic de leucémie myéloïde chronique à polynucléaires avait été retenu, le taux enzymatique était extrêmement élevé. D'ailleurs, si certains auteurs admettent l'existence de ce syndrome (20) et confirment avoir noté un indice élevé (6, 25, 30), d'autres discutent sa réalité et nous devons préciser que, chez notre malade, nous n'avons pas, de même que HAYHOE (25) mis en évidence de Ph 1. En outre, l'autopsie a révélé la présence d'un minuscule épithélioma épidermoïde apparemment tout à fait quiescent.

2 - En période de rémission, où se pose parfois un problème diagnostique rétrospectif, l'examen cytochimique, lorsqu'il montre un taux très bas, permet de répondre avec une bonne vraisemblance (dans 50 % des cas), mais un taux normal ou fort n'infirme pas le diagnostic.

La signification pronostique du test à ce stade est discutable. Certains auteurs ont affirmé que la récupération

d'un taux normal lors de la rémission était un indice heureux (63). C'est loin d'être certain (8, 52). Nous-mêmes avons quelques observations où, malgré le retour à un taux normal, l'évolution s'est faite rapidement vers une rechute.

Il reste à déterminer si la surveillance régulière de la phosphatase alcaline leucocytaire, dans les cas où celle-ci s'est élevée, permettrait de prévoir la rechute avant que n'apparaissent les modifications hématologiques.

3 - Certains auteurs (24) ont affirmé qu'une réduction thérapeutique aussi importante que possible de la polynucléose serait susceptible d'assurer une plus longue survie.

Cette notion est controversée et, comme nous venons de signaler que la récupération d'un taux normal de phosphatase n'était pas toujours un indice heureux (63), il est difficile de voir dans la très forte élévation de la phosphatase observée au cours des aplasies, un signe favorable quant à l'évolution ultérieure.

4 - Si le problème est de choisir entre leucémie myéloïde chronique vue d'emblée en phase de transformation aigue, leucémie myéloïde subaigue, ou leucémie aigue myéloblastique, la détermination du taux de phosphatase n'apporte pas d'argument important. Un taux fort permet d'évoquer plutôt une transformation, mais non de l'affirmer (l'abaissement de la phosphatase au cours des leucémies aigues myéloblastiques signalé par HAYHOE, n'est d'ailleurs pas constant).

La surveillance régulière de la phosphatase alcaline leucocytaire permettrait-elle de prévoir la transformation aigue ? Dans un certain nombre de cas sans doute, mais deux écueils existent : on risquerait parfois de s'émouvoir à tort, trop longtemps à l'avance, car on a rapporté qu'une phosphatase jusque-là basse,pouvait s'élever de très nombreux mois avant la survenue de la transformation aigue (10), A l'inverse, chez certains malades, le taux de l'enzyme est resté bas

alors que la transformation aiguë, redoutée sur les signes cliniques, ne pouvait encore être affirmée hématologiquement ; il s'est élevé brusquement quelques jours plus tard, quand les signes hématologiques de la transformation aiguë étaient devenus évidents. Dans d'autres cas encore, la phosphatase s'est élevée bien après l'apparition des signes hématologiques de la transformation aiguë. A ce stade les infections sont d'ailleurs fréquentes et jouent peut-être un rôle dans les modifications observées.

Les variations du taux de l'enzyme au cours de la leucémie myéloïde chronique ont suscité bien des discussions théoriques *. Il faut d'abord souligner que le rôle physiologique de la phosphatase alcaline leucocytaire (dont sont dépourvus les polynucléaires de la souris) n'est pas connu. Cependant, les constatations de RUBINI et Coll. (56) pourraient suggérer qu'en déphosphorylant l'acide thymidylique, la phosphatase alcaline leucocytaire serait susceptible de jouer un rôle inhibiteur sur la duplication de l'acide désoxyribonucléique.

L'existence d'un gêne ou de gênes, situés sur le chromosome 2I, et règlant la formation de la phosphatase alcaline leucocytaire mérite d'être discutée.

Deux constatations ont permis d'élaborer cette hypothèse. :

I - la diminution de la phosphatase au cours de la leucémie myéloïde chronique où NOWELL et HUNGERFORD (47) ont montré qu'un des chromosomes 2I des cellules de la moëlle est augmenté d'une partie de ses grands bras,

2 - l'augmentation du taux de l'enzyme dans la trisomie 2I (2, 5, 35, 68).

---

* - Bien que le zinc soit un cofacteur de l'enzyme, il ne semble pas exister de rapport entre l'abaissement du métal et de la phosphatase dans les polynucléaires de la leucémie myéloïde chronique (6I). Il faut savoir aussi qu'il n'y a pas de relation entre les phosphatases sérique et leucocytaire (70).

Deux arguments viennent appuyer cette idée :

1 - l'activité très faible qui a été trouvée sur les frottis de l'enfant malformé dont LEJEUNE et Coll. (39) ont montré que les cellules myéloïdes étaient haplo 2I.

2 - le rapport qui semble exister entre le nombre des petits acrocentriques des clones hétérophoïdes isolés à partir de la lignée d'origine humaine EUE et l'activité phosphatasique de ces cellules (14)

Mais si un gène situé sur le chromosome 21 joue un rôle dans la détermination de l'activité phosphatasique cellulaire, d'autres facteurs sont susceptibles d'agir ensuite sur le taux de l'enzyme.

Ceci peut être envisagé grâce à quatre sortes d'observations :

1 - expérimentalement, on a pu démontrer, en cultures de cellules, non sanguines il est vrai, l'existence "d'inducteurs" et de "répresseurs" de la phosphatase (17) ;

2 - la phosphatase alcaline leucocytaire peut s'élever ou s'abaisser dans de multiples circonstances chez des sujets qui ne sont ni mongoliens, ni leucémiques (5, 34, 38, 40 43, 55, 59, 60, 63, 70) ; ⊕

3 - dans les cas de leucémie myéloïde chronique, on a étudié précédemment dans quels cas différents, la phosphatase augmente. Or, on a constaté que, même dans ces cas, les précurseurs des polynucléaires possèdent toujours un chromosome Philadelphie (22, 65, 67);

4 - dans le mongolisme enfin, l'augmentation de l'indice n'est pas retrouvée chez l'adulte (3).

---

⊕ - Les opinions sont d'ailleurs différentes quant à l'effet de la goutte chez le sujet non leucémique :

- pour VALENTINE (70) elle augmente l'indice phosphatasique,
- pour d'autres, au contraire (40), elle l'abaisse.

Contre l'hypothèse selon laquelle il y aurait dans les circonstances "normales" une relation primaire simple de type linéaire entre le nombre de fragments distaux de chromosomes 21 porteurs du gène phosphatase alcaline et la "dose" d'enzyme , un certain nombre d'objections peuvent d'ailleurs être formulées (35, 68).

En phase myélocytaire, l'activité phosphatasique dans la leucémie myéloïde chronique est nulle ou presque, et non la moitié de la normale.

Elle est par ailleurs le plus souvent nulle aussi dans les leucémies myéloïdes chroniques apparemment banales où manque le chromosome Ph 1 (13, 67).

O'SULLIVAN n'a pas trouvé d'élévation de l'enzyme chez les mongoliens par translocation (49) : il n'y a pourtant pas de raison pour que manque chez eux le fragment distal des grands bras du chromosome 21.

COX, étudiant des cultures de cellules de mongoliens, n'a pas noté d'augmentation de la phosphatase (16) ; mais il s'agit ici de cultures de peau, et la régulation pourrait être différente pour des tissus variés (3).

Plusieurs auteurs ont avancé que, s'il manquait un gène dans la leucémie myéloïde chronique, ce serait plutôt un gène régulateur qu'un gène de structure (3, 35, 54).

A condition que l'effet de la délétion du "represseur de represseur" supposé par ROSEN et TEPLITZ (54) se fasse sentir sur le 21 resté intact, on pourrait expliquer l'annulation observée dans la leucémie myéloïde chronique ⊕, mais ceci ne supprime pas les autres discordances.

---

⊕ - BEUTLER lui-même (7) a renoncé à la théorie qu'il avait proposée pour expliquer ce fait, théorie selon laquelle un chromosome de chaque paire d'autosomes aurait pu être génétiquement inactif comme paraît bien l'être un des X. Rien, d'autre part, n'étaie sérieusement l'idée émise par HOOK et ENGEL (29) qu'une survie plus longue du polynucléaire leucémique pourrait rendre compte de l'abaissement de la phosphatase.

Mais surtout, la découverte récente de ROBINSON à Coll. (52) va peut-être devoir faire entièrement repenser ce problème : l'électrophorèse en gel d'amidon révèle que parmi les isozymes multiples mises en évidence à partir des polynucléaires normaux et pathologiques, la fraction la plus importante des globules blancs leucémiques n'a pas d'homologue chez les sujets sains.

On pourrait donc se trouver devant une perturbation intrinsèque de l'enzyme et non une modification quantitative.

Il reste cependant à démontrer qu'il ne s'agit ni de l'augmentation d'une isozyme non identifiée à l'état normal du fait d'une sensibilité trop faible de la méthode, ni de modifications de migration liées à d'autres anomalies cellulaires.

# C O N C L U S I O N

Les résultats des déterminations de la phosphatase alcaline leucocytaire chez 155 malades atteints de leucémie myéloïde chronique, par une méthode cytochimique très proche de celle de KAPLOW (31) utilisant comme substrat l'$\alpha$ naphtyl phosphate de soude, permettent les conclusions suivantes.

Dans l'ensemble, il est vrai que, selon le schéma classique, on observe une diminution de l'activité enzymatique au cours de la leucémie myéloïde chronique, diminution qu'on peut opposer à l'augmentation notée le plus souvent dans les réactions myéloïdes, la splénomégalie myéloïde, la maladie de Vaquez, mais d'importantes nuances sont à apporter à ce schéma.

Le taux de l'enzyme est bien effondré dans 90 % des cas au stade myélocytaire et dans plus de la moitié des cas restants, on trouve une explication à un taux plus élevé (grossesse, infection, arthrite goutteuse, proximité de la transformation aigue, cas de nosologie douteuse).

Par contre :

1 - lors des aplasies, le taux de l'enzyme devient très élevé,
2 - en période dite de rémission, la moitié des malades récupère un taux normal,
3 - au cours de la transformation aigue, l'indice reste bas dans plus du quart des cas, mais il est trouvé supérieur à la normale dans le moitié des cas et revient dans les limites de la normale chez le reste des malades.

Bien qu'unindice phosphatasique bas puisse être noté chez de rares individus normaux et qu'un certain nombre de splénomégalies myéloïdes aient une phosphatase non augmentée, une activité enzymatique faible a une grande valeur diagnostique sitôt qu'existe un syndrome pour lequel on peut discuter une leucémie myéloïde chronique et une telle constatation doit notamment faire rechercher un chromosome philadelphie.

Mais il ne faut pas attribuer une valeur exagérée, du point de vue nosologique, à l'indice phosphatasique. Il a été trouvé très bas dans trois cas de "leucémie myéloïde chronique juvénile" et ne permet pas de distinguer ces observations des leucémies myéloïdes banales de l'enfance. A l'opposé, un taux augmenté dans une leucémie myéloïde chronique à polynucléaires neutrophiles ne suffit pas, même en absence de chromosome phl pour rejeter l'existence de ce cadre nosologique.

Aux autres stades de la maladie, l'intérêt diagnostique de la phosphatase alcaline leucocytaire n'est pas aussi grand :

- un indice bas permettrait souvent de faire un diagnostic rétrospectif au cours des rémissions,
- un taux élevé ne peut guère aider à différencier une transformation aigue de leucémie myéloïde chronique d'une leucémie myéloïde subaigue ou d'une leucémie aigue myéloblastique.

Quant à l'intérêt pronostique de cette évaluation enzymatique, il résiderait dans la possibilité de prévoir :

- une plus longue survie en cas de retour à la normale du taux pendant la rémission, mais ceci ne peut encore être affirmé,
- la proximité de la transformation aigue, mais d'importantes réserves doivent être faites à ce sujet ; il est possible que la phosphatase s'élève de nombreux mois avant la transformation, et qu'elle reste basse, à l'inverse, une fois même que la transformation évolue depuis un certain temps.

Du point de vue théorique, il existe une difficulté majeure à la compréhension des phénomènes observés puisqu'on

ignore le rôle biologique de la phosphatase alcaline leucocytaire. L'hypothèse qui fait dépendre le taux de la phosphatase de l'activité d'un gène (ou de gènes) situé (s) sur le chromosome 21 est séduisante et de nombreux faits plaident en sa faveur. Mais il existe certainement d'autres causes aux variations de la phosphatase alcaline leucocytaire que les anomalies du chromosome 21.

-=-=-=-=-=-

Vu, le Président de Thèse :

Professeur Jean BERNARD

Vu, le Doyen de la Faculté :

Professeur G. BROUET

Vu, et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE

# B I B L I O G R A P H I E


1 - ACKERMAN G.A. : Substituted naphtol as phosphate derivatives for the localization of leucocyte alkaline phosphatase activity - Lab. Invest. 11-563, 1962.

2 - ALTER A.A., LEE S.L., POURFAR M. et DOBKIN G. : Leucocyte alkaline phosphatase in mongolism ; a possible chromosome marker - J. Clin., Invest., 41, 1341, 1962.

3 - ALTER A.A., LEE S.L., POURFAR M., DOBKIN G. : Studies of leucocyte alkaline phosphatase in mongolism : a possible chromosome marker - Blood, 22, 165, 1963.

4 - ANSTEY L., KEMP N.H., STAFFORD J.L., TANNER R. : Leucocyte alkaline-phosphatase activity in polycythaemia rubra vera - Brit. J. Haemat., 9, 91, 1963.

5 - BEISEL W.R., BENJAMIN N., AUSTEN K.F. : Absence of leucocyte alkaline phosphatase activity in hypophosphatasia - Blood 14, 975, 1959.

6 - BERNARD J., TANZER J., BOIRON M., LEVY J.P., RIPAULT M., HAREL P. : Un cas de leucémie à polynucléaires neutrophiles. Etude cytochimique et chromosomique - Nouv. Rev. Franç. d'Hémat., 4, 253, 1964.

7 - BEUTLER E. : Autosomal inactivation - Lancet 1-1242, 1963.

8 - BLOCK J.B., CARBONE P.P., OPPENHEIM J.J., FREI E. : The effect of treatment in Patients with chronic myelogenous leukemia - Ann. Int. Med. 59-629, 1963.

9 - BRODELL H. and SWISHEN S.N. : Studies of leucocyte alkaline phosphatase determined by a clinically applicable histochemical method - Clin. Res. Proc. 2, 58, 1954.

10 - BROZOVIC-VASIC M., RUDIVIC R. : Leukocyte alkaline phosphatase in chronic granulocytic leukaemia - Acta Medica Iugos., 18, 157, 1964.

11 - BRUNELLI L. et CAMERINI G. : Contributo allo studio della fosfatasi alcalina dei granulociti nell'eta infantile - Minerva Ped., 12, n° 21-22, 628, 1960.

12 - BURSTONE M.S. - Diazonium salts and azo coupling in Enzyme histochemistry - Chap. III - Académic Press N.Y. 1962. - Phosphatases - Chap. V, p. 160.

13 - CARBONE P.C., TJIO J.H., WHANG J. : Cytogenetic studies of 73 consecutive patients with chronic myelogenous leukemia - Proc. Am. Ass. Cancer Res., 5, 10, 1964.

14 - DE CARLI L., MAIO J.J., NUZZO F., BENERECETTI A.S. : Cytogenetic studies with alkaline phosphatase in human heteroploid cells - Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 29, 223, 1964.

15 - CLIMIE A.R.W., HEINRICHS W.L. and FOSTER I.J. : Neutrophilic Alkaline phosphatase test - Am. Jour. Patho. 38, p. 95, 1962.

16 - COX R.P. : Regulation of alkaline phosphatase in skin fibroblast cultures from patients with mongolism - Exp. Cell. Res. 37, 690, 1965.

17 - COX R.P., MACLEOD C.M. : Regulation of alkaline phosphatase in human cell cultures - Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 29, 233, 1964.

18 - FIESSINGER N., BOYER F. : Les phosphatases des leucocytes- Enzymologia, 1-172, 1936.

19 - FREI J., BOREL C. : Les enzymes du leucocyte - Ann. Biol. Clin., 22, 205, 1965.

20 - GINGOLD N., OPROIU C.D., COMANESCU N. : Cytochemical and cytogenetic findings in chronic neutrophilic leukaemia of mature cell type - Lancet 2, II23, I964.

2I - GOMORI G. : Microscopie histochemistry - University of Chicago Press. Chicago I952.

22 - HAMMOUDA F., QUAGLIMO D., HAYHOE F.G.J. : Blastic crisis in chronic granulocytic leukaemia. Cytochemical, cytogenetic and autoradiographic studies in four cases - Brit Med. J., I, I275, I964.

23 - HARDISTY R.M., SPEED T.E., TILL M. : Granulocytic leukaemia in childhood - Brit. J. Haemat., IO, 55I, I964.

24 - HAUT A., ABBOTT W.S., WINTROBE M.M. and CARTWRIGHT G.E. : Busulfan in the Treatment of chronic Myelocytic leukemia. The effect of long term intermittent therapy - Blood, I7, n° I, p. I,I96I.

25 - HAYHOE F.G.J., HAMMOUDA F.
Cytogenetic and metabolic observation in leukaemias and allied states. Symposium on Current Research in Leukaemia, p. 55 - University Press Cambridge I965.

26 - HAYHOE F.G.J. and QUAGLIMO D. : Cytochemical demonstration and measurement of leucocyte alkaline phosphatase activity in normal and pathological states by a modifie Azo-Dye Coupling Technique - Brit. J. Haemat., 4, 375, I958.

27 - HAYHOE F.G.J., QUAGLIMO D., DOLL R. : Cytology and cytochemistry of acute leukaemias - Med. Res. Council Special Report Series (n° 304) - Her. Majesty's stationery Office - London - I964.

28 - HEATH C.W. Jr., MALONEY W.C. : The philadelphia chromosome in an unusual case of myelopiol proliferative disease. - Blood, 26, p. 47I, I965, (n° 4 Oct.).

29 - HOOK E.B., ENGEL R.R. : Leucocyte life-span, leucocyte alkaline phosphatase and the 2I$^{st}$ chromosome - Lancet I, II2, I964.

30 - JACKSON I.M.D., CLARK R.M. : A case of neutrophilic leukemia - Am. J. Med. Sci., 249, 73, 1965.

31 - KAPLOW L.S. : A histochemical procedure for localizing and eveluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow - Blood 10, 1023, 1955.

32 - KAPLOW L.S. : Cytochemistry of leucocyte Alkaline phosphatase - Amer. J. Clin. Pathol. 39, n° 5, 439, 1963.

33 - KAY H.D. : Plasma phosphatase in osteitis deformans and in other diseases of bone - British J. Exp. Path. 10, 253, 1929.

34 - KENNY J.J., MOLONEY W.C. : Leukocytic alkaline phosphatase. Behavior during prolonged incubation and infection in normal and leukemic leukocytes - Blood, 12, 295, 1957.

35 - KING M.J., GILLIS E.M., BAIKIE A.G. : The polymorphonuclear alkaline phosphatase in mongolism - Lancet 2, p. p. 661, 1965.

36 - KNUDTSON K.P., EVANGER A.E. : Standardization of the leukocyte alkaline phosphatase test - Report of Clinical Sutdies - Am. J. Clin. Pathol. 42, n° 2, p. 121, 1964.

37 - KOCH E. und REMY D. : Die alkalische leucocyten phosphatase in der differential diagnose hämatologischen Erkrankungen - Klin Wschr. 38, p. 26, 1960.

38 - KOLER R.D., SEAMAN A.J., OSGOOD E.E., VANDELLINGHEN P. : Myeloproliferative diseases . Diagnostic value of the leucocyte alkaline phosphatase test. Am. J. Clin. Path. 30, 295, 1958.

39 - LEJEUNE J., BERGER R., RETHORE M.O., ARCHAMBAULT L., JEROME H., THIEFFRY S., AICARDI J., BROYER M., LAFOURCADE J., CRUVEILLER J., TURPIN R. : Monosomie partielle pour un petit acrocentrique - C.R. Acad. Sci. Paris, 259, 4187, 1964.

40 - MARTINEZ-MALDONADO M., MENENDEZ-CORRADA R., RIVERA DE SALA A. : Diagnostic value of alkaline phosphatase in leukocytes - Am. J. Med. Sci. 248, 175, 1964.

41 - MATHE G., AMIEL J.L. : La Greffe - Aspects biologiques et cliniques - Chap. VIII, p. 173 - Masson & Cie - Paris 1962.

42 - MDZEWSKI B. : Alkaline phosphatase of mature granulocytes in certain hematologic conditions - Polskie Arch. Med. Wewnet., 33, 511, 1963 (Analyse dans Blood 23, 860, 1964).

43 - MERKER H. : The significance of cytochemical and cytogenetic findings in chronic granulocytic leukemia and related diseases - Symposium on Current Research in Leukaemia p. 1 - University Press - Cambridge 1965.

44 - MITUS W.J., BERGNA L.J., MEDNICOFF I.B., DAMESHEK W. : Alkaline phosphatase of mature neutrophils in chronic forms of the myeloproliferative syndrome - Am. J. Clin. Path., 30, 185, 1958.

45 - MOLONEY W.C. : Leukocyte alkaline phosphatase activity in the rat - Ann. N.Y. Acad. Sci., 75, 31, 1958.

46 - NOWELL P.C., COLE L.J., HABERMEYER J.G., ROAER P.L. : Growth and continued function of rat marrow cells in X radiated mice - Cancer Res., 16, 258, 1956.

47 - NOWELL P.C., HUNGERFORD D.A. : A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia - Science 132, 1497, 1960.

48 - O'KELL R.T., AXOR L.L. : Leukocyte alkaline phosphatase in the new born infant - Am. J. Obst. Gynec. 93, 1181, 1965.

49 - O'SULLIVAN M.A., PRYLES C.V. : A comparison of leukocyte alkaline phosphatase determinations in 200 patients with mongolism and in 200 "familial"controls - New Engl. J. Med., 268, 1168, 1963.

50 - RANLOV P. : Leucocytic alkaline phosphatases in haematology - Dan. Med. Bull. p. 171, 1962.

51 - REISMAN L.E., TRUJILLO J.M. : Chronic granulocytic leukemia of childhood. - J. Ped., 62, 710, 1963.

52 - ROBINSON J.C., PIERCE J.E., GOLDSTEIN D.P. : Leukocyte alkaline phosphatase : electrophoretic variants with chronic myelogenous leukemia associated - Science I50, 58, I965.

53 - ROCHE J. : Blood Phosphatases - Biochem. J., 25, 1724, 1931.

54 - ROSEN B., TEPLITZ L. : Chronic granulocytic leukemia complicated by ulcerative colitis ; elevated leukocyte alkaline phosphatase and possible modifier gene deletion - Blood 26, 148, 1965.

55 - ROSNER F. and STANLEY L.L. : Endocrine Relation ships of leucocyte Alkaline Phosphatase - Blood, 25, 356, 1965.

56 - RUBINI J.R., KELLER S., McCALL M.S. : Inhibition of tritiated thymidine incorporation into DNA by alkaline phosphatase preparations - Cancer Res., 24, 655, 1964.

57 - SCHMIDT G., LASKOWSKI M. Sr : Phosphate ester cleavage (Survey) in The enzymes (sous la direction de BOYER P., HARDY H., MYRBACH K.) - Academic Press. Vol. 5, p. 3, 1961.

58 - SHEKARCHI J.C., MAKINEDAN T. : Persistance of heterologous bone marrow in mice as function of X- ray doses - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 100, p. 414, 1959.

59 - SRAMKOVA L., KOUBA K., BENDOVA N. : Alkaline phosphatase in neutrophil leukocytes of patients with infections mononucleosis and the effect of corticosteroïd therapy - Blood, 26, 479, 1965.

60 - STROUN J. et HAUSSER E. : La phosphatase alcaline leucocytaire dans les affections hépato-biliaires - Soc. Suisse Gastroent. 102, 283-291, 1964.

61 - SZMIGIELSKI S., LITWIN J. : The histochemical study of zinc content in granulocytes in normal adult and in hematologic disorders - Blood, 25, 56, 1965.

62 - TAKAMATSU H. : Histologische und biochemische Studien über die Phosphatase ; histochemische untersuchungsmethodik der Phosphatase und deren Verteilung in Verschiedenen Organen und Gewelson - Tr. Soc. Path. Jap. 29, 492, 1939.

63 - TANAKA K.R., VALENTINE W.N., FREDRICKS R.E. : Diseases or clinical conditions associated with low leukocyte alkaline phosphatase - New Engl. J. Med., 262, 912, 1960.

64 - TANZER : Evaluation cytochimique des phosphatases alcalines des polynucléaires neutrophiles - Path. Biol., 11, 242, 1963.

65 - TANZER J., BERNARD-GRIFFITHS J., HAMPE A., BOIRON M., BERNARD Jean : Le chromosome Philadelphie dans la transformation aigue de la leucémie myéloïde chronique - Comm. Congrès de la Société Européenne d'Hématologie - Strasbourg 1965. Sous presse.

66 - TANZER J., HAMPE A., BENSIMON P., BOIRON M., BERNARD Jean : L'évaluation cytochimique de la phosphatase alcaline leucocytaire dans la leucémie myéloïde chronique - Son intérêt pratique - Nouv. Rev. Franç. d'Hémat., 1965 - sous presse.

67 - TOUGH I.M., JACOBS P.A., COURT BROWN W.N., BAIKIE A.G., WILLIAMSON E.R.D. : Cytogenetic studies on bone-marrow in chronic myeloid leukaemia - Lancet 1, 844, 1963.

68 - TRUBOWITZ S., KIRMAN D., MASEK B. : The leucocyte alkaline phosphatase in mongolism - Lancet 2, 486, 1962.

69 - UNDRITZ E. : Zur Aktivität der alkalischen Phosphatase bei der Chronischen myeloischen Leukämie - Schweiz. Med. Wochen., 44, Bd 95, p. 1515, 1965.

70 - VALENTINE V.N., FOLLETTE J.H., SOLOMON D.H., REYNOLDS J. : Biochemical and enzymatic characteristics of normal and leukemic leukocytes with particular reference to leukocyte phosphatase. In the leukemias etiology, pathophysiology and treatment. p. 457, Henri Ford Hospital International Symposium, Acad. Press. Inc., N.Y., 1957.

71 - WACHSTEIN M. : Alkaline phosphatase activity in normal and abnormal blood and bone marrow cells - J. Lab. Clin. Med. 31, 1, 1946.

72 - XEFTERIS E., MITUS W.J., MEDNICOFF I.B., DAMESHEK W. : Leucocytic alkaline phosphatase in busulfan induced remissions of chronic granulocytic leukemia - Blood 18, 202, 1961.

-=-=-=-=-

**TABLEAU I** : La phosphatase alcaline leucocytaire dans la leucémie myéloïde chronique (155 malades).

| | Indice phosphatasique | Nombre de malades | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Période myélocyt. | Rémiss. | Aplasie | Transform. aigue |
| Taux normal ↑ | 0- 15 | 103 | 15 | - | 8 |
| | 16- 39 | 6 | 3 | - | 2 |
| | 40- 59 | 2 | 5 | - | 3 |
| | 60- 79 | 1 | 3 | - | 1 |
| | 80- 99 | - | 4 | - | 2 |
| ↓ | 100-149 | 3 | 2 | 2 | 7 |
| | 150-199 | - | - | - | 8 |
| | 200-350 | 1 | - | 4 | 6 |
| | Nombre total de malades | 116 | 32 | 6 | 37 |

**TABLEAU II** : 13 cas de leucémie myéloïde chronique avec indice phosphatasique supérieur à 15.

| Indice phosphatasique | Nbre de cas | Cas n° | Particularités cliniques | Autres données |
|---|---|---|---|---|
| 16-39 | 5 | 1-4 | Rien de particulier | Hémogramme, myélogramme, biopsie médullaire typiques de LMC. Une seule détermination de l'indice. |
| | | 5 | Grossesse de 4 mois. | Indice nul après l'accouchement. |
| 40-79 | 3 | 6 | - Infection pulmonaire grave,<br>- suspicion de transformation aigue (localisation méningée probable) | - Transformation non prouvée par l'hématologie,<br>- Décès,<br>- Pas d'autopsie |
| | | 7 | Arthropathie goutteuse | - Légère fibrose à la biopsie de moelle,<br>- chute ultérieure de l'indice à 0,<br>- présence de chromosome Ph 1 |
| | | 8 | Infarctus splénique. | Indice nul quelques semaines après |
| 100-149 | 4 | 9 | Infarctus splénique | Indice nul par la suite |
| | | 10 | Arthropathie goutteuse. | Indice nul ensuite |
| | | 11 | néant | -Hémogramme (200.000 GB), myélogramme et biopsie de moelle typiques de LMC,<br>-Pas d'étude chromosomique,<br>-Une seule détermination de l'indice,<br>-Perdue de vue. |
| | | 12 | 79 ans | -Hémogramme (41.000GB) myélogramme splénogramme biopsie médullaire typiques de LMC<br>-pas de chromosome Ph 1 mais clone à 50 chromosomes - Perdue de vue |
| 200-300 | 1 | 13 | 5 mois et demi<br>- Transformation aigue un mois plus tard | - Présence de chromosome Ph I. |

TABLEAU III : La phosphatase alcaline leucocytaire dans la splénomégalie myéloïde et la maladie de Vaquez.

| Indice phosphatasique | Nombre de malades | |
|---|---|---|
| | splénomégalie myéloïde | polyglobulie de Vaquez |
| 0- 15 | 2 | - |
| 16- 39 | - | 1 |
| 40- 59 | 3 | - |
| 60- 79 | 2 | 4 |
| 80- 99 | 2 | 1 |
| 100-149 | 4 | 3 |
| 150-199 | 4 | 5 |
| 200-350 | 9 | 1 |
| Total de malades | 26 | 15 |

TABLEAU III : La phosphatase alcaline leucocytaire dans la splénomégalie myéloïde et la maladie de Vaquez.

| Indice phosphatasique | Nombre de malades | |
|---|---|---|
| | splénomégalie myéloïde | polyglobulie de Vaquez |
| 0- 15 | 2 | - |
| 16- 39 | - | 1 |
| 40- 59 | 3 | - |
| 60- 79 | 2 | 4 |
| 80- 99 | 2 | 1 |
| 100-149 | 4 | 3 |
| 150-199 | 4 | 5 |
| 200-350 | 9 | 1 |
| Total de malades | 26 | 15 |

EDITIONS A.G.E.M.P.
8 RUE DANTE
- PARIS V° -
ODÉ 58-90